

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

第2591535号

(45) 発行日 平成9年(1997)3月19日

(24) 登録日 平成8年(1996)12月19日

(51) IntCl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 21/01			G 0 1 N 21/01	B
21/03			21/03	Z

請求項の数17(全 9 頁)

(21) 出願番号	特願平2-507033	(73) 特許権者	999999999
(86) (22) 出願日	平成2年(1990)4月25日		マイグラータ ユーケイ リミテッド・ イギリス国エスタブリッシュ、ワイ6ビー ジェイ ロンドン、セント ジェイムス ズ、デューク ストリート 2
(65) 公表番号	特表平4-504758	(72) 発明者	ニルソン、スベン — エリク
(43) 公表日	平成4年(1992)8月20日		スウェーデン国エス — 253 67 ヘ ルシングボルグ、ドーベリウスベーゲン 39
(86) 国際出願番号	P C T / S E 9 0 / 0 0 2 7 5	(72) 発明者	リルヤ、ヤン
(87) 国際公開番号	W O 9 0 / 1 3 0 1 6		スウェーデン国エス — 253 68 ヘ ルシングボルグ、エス、ブルンスベーゲ ン 63
(87) 国際公開日	平成2年(1990)11月1日	(74) 代理人	弁理士 浅村 皓 (外3名)
(31) 優先権主張番号	8 9 0 1 5 1 8 - 4		
(32) 優先日	1989年4月26日	審査官	樋口 宗彦
(33) 優先権主張国	スウェーデン (S E)		
前置審査			

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 キュベット

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】 少なくとも一種の流体を採取し、この流体を試薬と混合して、この混合物を分析するためのキュベットであって、

入り口(13)を介して毛細管作用により流体を直接採取することができる少なくとも一つの第一の毛細管キャビティ(12)、

該毛細管キャビティから、上記毛細管作用と実質的に同じ向きに流体を移動させるための第一の流路(14)、ただし該流路は毛細管ではなく、遠心力を作用させることにより流体を移動させることができるようになっており、

該第一の流路を介して、移動してきた流体を受け入れるための受入キャビティ(17)、及び

該受入キャビティから毛細管作用によって流体を採取す

2

るように構成された少なくとも一つの第二のキャビティ(16、21、21'、21")からなることを特徴とする上記キュベット。

【請求項2】 前記流路の近くに配置され、前記受入キャビティの部分に突出して前記受入キャビティと連通し、かつ前記第二のキャビティに接続する毛細管構造(18、19)を有する請求項1記載のキュベット。

【請求項3】 受入キャビティ(17)と第二のキャビティ(21)との間に毛細管流路(20)を配設し、前記の受入キャビティ(17)から離れて向いている前記の毛細管構造の末端部分が前記の流路(20)に固定されている請求項2に記載のキュベット。

【請求項4】 第一のキャビティ(12)と受入キャビティ(17)を互いに一直線に配置し、第二のキャビティ(21)の毛細管流路(20)はこの直線とある角度をなし、

10

かつ前記の第二のキャビティ (21) は排出口 (22) を介して周囲雰囲気と連通している請求項3に記載のキューベット。

【請求項5】さらに、前記第二のキャビティ (21) から前記第一の流路 (14) と実質的に同じ向きに流体を移動させるための第二の流路 (14')、ただし該流路 (14') は毛細管ではなく、遠心力を作用させることにより流体を移動させることができるようになっている、及び該第二の流路を介して、移動してきた流体を受け入れるための第二の受入キャビティ (17') を有する請求項4に記載のキューベット。

【請求項6】前記の第二の受入キャビティ (17') が前記の第一の流体輸送手段 (19) に対応し且つ第二のキャビティ (21) と同じ種類の第三のキャビティ (21') に開いている第三の毛細管流路 (20') に接続している手段 (19') を有する、請求項5に記載のキューベット。

【請求項7】別の受入キャビティ (17'')、流路 (14'') およびキャビティ (21'') が前記の第三のキャビティ (21') を介して前記の第二のキャビティ (21) に接続している、請求項6に記載のキューベット。

【請求項8】複数の流路 (14, 14', 14'') と受入キャビティ (17, 17', 17'') と輸送手段 (19, 19', 19'')、毛細管流路 (20, 20', 20'') およびキャビティ (21, 21', 21'') を有し、総ての流路 (14, 14', 14'') と受入キャビティ (17, 17', 17'') とが、毛細管流路 (20, 20', 20'') が延びる平行線とある角度をなしている平行線に沿って延びる、請求項7に記載のキューベット。

【請求項9】1個を上回るキャビティ (20, 25) をそれぞれの受入キャビティ (17) に接続する、請求項2～8のいずれか1項に記載のキューベット。

【請求項10】流体輸送手段 (18, 19, 19', 19'', 23) が芯から成る、請求項2～8のいずれか1項に記載のキューベット。

【請求項11】少なくとも第二のキャビティ (16, 21, 21', 21'') が試薬又は流体改質剤を含む請求項1～10のいずれか1項に記載のキューベット。

【請求項12】総てのキャビティ (12, 21, 21', 21'', 25) および/または受入キャビティ (17, 17', 17'') を同じまたは異なる種類の試薬または流体改質剤でコーティングする、請求項1～11のいずれか1項に記載のキューベット。

【請求項13】希釈または洗浄液体を収容する少なくとも1つのキャビティ (30) を前記の第一のキャビティ (12) と並列に接続し、前記の2個のキャビティ (12, 30) の出口 (33, 34) は前記の第一の流路 (14) に接続されている、請求項1～12のいずれか1項に記載のキューベット。

【請求項14】希釈または洗浄液体を収容する少なくとも1つのキャビティ (38) が、流路 (41)、受入キャビティ (40) および液体引上げ毛細管構造 (42) を介して

前記の第一のキャビティ (12) と直列に接続されている、請求項1～12のいずれか1項に記載のキューベット。

【請求項15】希釈または洗浄液体を収容するキャビティ (30, 38) がその入り口および出口に、該液体を密封して取り囲む手段 (32, 35) を有し、前記の出口に設けた手段はキャビティに配置された貫通手段 (36) によって破壊可能であり且つ遠心力によって活性化可能である、請求項13または14に記載のキューベット。

【請求項16】少なくとも1個の受入キャビティ (17, 17', 17'', 40) が、該受入キャビティからの液体を採取するのに適している連続するキャビティ (それぞれ21, 21', 21'', 21'' および12) よりも大きな容積 (37) を有する、請求項1～15のいずれか1項に記載のキューベット。

【請求項17】少なくとも1個のキャビティを、親水性または疎水性の種類の半透膜であって所望により試薬を含むものでカバーする、請求項1～16のいずれか1項に記載のキューベット。

【発明の詳細な説明】

本発明は、少なくとも1種類の流体を採取し、この流体を試薬と混合して混合物を分析するためのキューベットであって、流体を入り口を通して採取することができる少なくとも1個の第一のキャビティを有するキューベットに関する。

この混合物を直接光学分析するのに用いられるこの種類のキューベットは米国特許第4,088,448号明細書の記載により以前から知られている。本発明のキューベットは、光路を形成し且つこの光路の長さを決定するために互いに所定の距離をあけた2つの平坦な表面を有し且つキャビティを周囲雰囲気と連通させる入り口を有するキャビティを画定する本体部材から成っている。このキャビティは所定の固定した容積を有し、前記の表面の間に所定距離があるので、このキャビティが毛細管作用によって試料を吸収することができる。更に、試薬は、キャビティの表面に適用される。

この既知のキューベットは、同じ種類の他の先行技術による装置と比較して多くの利点を提供する。このキューベットによって、流体を採取し、混合し、適当な試薬と化学的に反応させて、例えば次の測定操作に用いられるのと同じキャビティにおいて発色させることができる。したがって、米国特許第4,088,448号明細書によるキューベットは、試料採取手続きを簡略化し、付属装置の量を少なくし、(分析の種類によっては) ほとんどの場合に、分析を行う人の技術とは関係なく分析手続きを作成することによって分析の制度を著しく増す。

米国特許第4,654,197号明細書に記載のキューベットは、このキューベットの機能的な部分として半透膜を用いることによってキューベット系において可能な反応の数を増加させる。

本発明の目的は、これらの既知のキューベットを更に改良することであり、その目的のために、この新規なキュー

ベツトは、前記の第一のキャビティの外に、外部の影響力のみによって、好ましくは遠心力を作用させることによって、流体を収容するための手段を有する第一の流路を介して何んらの外部の影響力なしに毛細管作用によって第一のキャビティから流体を採取するのに好適な少なくとも1個の第二のキャビティを有し、少なくとも第二のキャビティは試薬または流体改質剤を含むことを特徴とする。

したがって、本発明によるキューベツトは、周囲を取り囲む壁によって画定される少なくとも2個のキャビティ、すなわち流体が入り口を通して好ましくは毛細管作用によって採取される第一のキャビティまたは入り口キャビティと、キューベツトの遠心分離の後に流体を採取することができる第二のキャビティを有する。好ましくは、前記の流路を通じて第一のキャビティと連通する受入キャビティが設けられる。この受入キャビティは2つの区画、すなわち流体中に吸収される重い物質を収容する第一の低区画と、第二のキャビティを形成して、測定キャビティとして働く第二の上部区画とに分割されることができる。流路中で流体を輸送するのに遠心力に依存する代わりに、第一のキャビティにおいて流体に圧を加えることも可能であるが、これは排出装置を前提とする。キャビティ、受入キャビティおよび流路の壁、またはそれらの所望な部分を試薬などでコーティングしてもよく、分析は第一のキャビティおよび受入キャビティの第二または毛細管区画および受入キャビティの重い方の物質の区画で流動状態で行うことができる。

例えば、米国特許第4,462,964号明細書および米国特許第4,714,590号明細書から、分析キューベツトでは流路中に毛細管オリフィスを設けることは以前から知られている。本発明による配置とは異なり、これらのオリフィスは、キューベツトに遠心分離を施すまでは流体の輸送を妨げるように働く。遠心分離の際に流体は毛細管オリフィスを通して分析セル中に押圧される。本発明によるキューベツトにおいて流体が流路に入るのを防止する特殊な装置は既知の装置におけるのと同様に毛細管オリフィスの形態をしているが、かかるオリフィスは用いられる疎水性フィルター材料よりも効果的であるということはないであろう。本発明によるキューベツトの流路とその第二のキャビティとの間に配設された毛細管装置は、何んら外部の影響力なしにその機能を行う。

本発明による改良されたキューベツトの一つの利点は、分析を血漿または血清で行わなければならないときであっても、これを全血採取に用いることができることである。したがって、このキューベツトは、米国特許第4,088,448号明細書および米国特許第4,654,197号明細書に記載のキューベツトよりもずっと広い範囲内での分析に用いることができる。先行技術によるキューベツトよりも有利なもう一つの点は、遠心力を用いることによって異なるキャビティ中で異なる反応を行うことが可能になり、した

がって、次の試薬を用いる前に一定時間のインキュベーションを行うことができることである。更にもう一つの利点は、反応において生成するまたは用いられるような材料、例えば沈澱したタンパク質または免疫凝集体であって、次の反応または測定を妨げるものは、遠心分離によって分離することができる。

キューベツトは、ガラスまたはポリマー材料から製造することができる。これは多くの他の材料から製造することも可能であり、例えば米国特許第4,654,197号明細書に記載のキューベツトのように様々な種類の半透性材料または光学的に透明な或いは不透明な材料から製造することも可能である。少なくとも1個のキャビティに供給される試薬は、蒸発、凍結乾燥、噴霧、スクリーン印刷または他の手法によって堆積させることができる。

キューベツトの機能性部分は、分析を行う流体および分析の種類によって変化することがある。入り口キャビティが毛細管作用によって流体を吸収するようになっている場合には、キューベツトの壁の距離は1mm未満、好ましくは0.7mm未満でなければならない。そうでない場合は、壁以外の手段によって毛細管作用を生じさせなければならない。壁材料は液体に湿潤性でなければならないかまたは処理を行って湿潤性にしなければならない。入り口キャビティの容積は連続するキャビティにおける流体の必要性および遠心分離によって分離される材料の量によって変わる。第一のキャビティを第二または受入キャビティに接続する流路は毛細管作用が低く、すなわち壁間距離が0.7mmを上回るものである。流路を画定する壁は非湿潤性材料から適当に製造することができ、または処理を行って非湿潤性にすることができる。この流路は非湿潤性の濾過材料または第一のキャビティからの流体の自発的輸送を防止するための他の手段を有することもできる。この配置により、採取される流体の量はかなり精確になり、製造方法によって決定することができる。流路を適宜設計することにより、これを用いて遠心分離中にこの流路を通過する液体を混合することもでき、且つ前記のように試薬を提供することもできる。

2つの受入キャビティ区画のうち、低区画は前記のように、壁間の毛細管作用が低い、上部区画の毛細管作用は高い。上部区画は、「芯」と呼ぶことができる部分を介して低区画と合併する。「芯」はキューベツト壁における毛細管流路から成ることができるが、特殊な設計の伝統的に操作する芯から成っていることもできる。したがって、流体は遠心力の働きが停止したならば直ちに毛細管作用によって低区画から上部区画へ抜き取られる。

本発明を、幾つかの態様を図式的に例示している添付図面に関して以下に更に詳細に説明する。

第1図は、本発明の基本的態様の正面図であり、

第2図は、この態様の縦断面図であり、

第3図～第8図は、様々な数のキャビティおよび改質された設計の受入キャビティを有する本発明の他の態様

の正面図である。

第1図および第2図におけるキューベットは、ガラスまたはポリマー材料から成る第一の壁10およびこれもガラスまたはポリマー材料から成る第二の壁11を有する。壁10および11は、光学窓、半透膜、電極材料または他の技術的手段のような数種類の他の材料から成っていてもよい。壁10,11は深さが異なる複数のキャビティを画定する。第一のキャビティ12または入り口キャビティは液体試料を吸収するようになっており、周囲の雰囲気と連通する毛細管状の入り口13を通して毛細管作用によって満たすことができる深さを有する。しかしながら、液体試料を注入することによってこのキャビティを満たすことも考えられるが、そのばあいには本発明の利点の一つはなくなる。第一のキャビティ12は、キャビティに引き込まれる液体試料と反応する薬剤である試薬を有していてもよい。この試薬は、キューベットを製造する仕方によって蒸発、凍結乾燥、噴霧、スクリーン印刷または任意の好適な方法によってキャビティの壁に付着させることができる。第一のキャビティ12は、試料を改質するものではない薬剤を含んでいてもよい。第一のキャビティ12は流路14に入るが、この流路は第2図に示されるように、その深さによって入り口キャビティに収容される液体に対する毛細管作用が低く且つ疎水性材料から成る壁またはそのような材料で処理した壁を有する。更に、この流路は15で示されるような疎水性の濾過材料も有している。これらの手段は併合することもできる。更に、流路14は試薬または改質剤を含んでいてもよい。この流路14は2つの区画、すなわち「第二のキャビティ」と呼ぶこともできる上区画16と下区画17とに分割された受入キャビティ16,17に開いている。上区画または第二のキャビティ16は、第2図に示されるように壁間距離が小さいため毛細管作用を行うが、下区画17は流路14と同様にその深さが大きいため毛細管作用はまったく行わない。低区画の壁は、流路の壁と同じ方法で処理することができる。上区画または第二のキャビティ16と下区画17の間には、上区画に接続されているが末端が下区画の底部からある距離だけ離れている芯18が設けられている。この「芯」18は任意の適当な材料から成る従来の芯であってよいが、キューベット壁またはその上の構造における特殊な毛細管状のスロットから成っていてもよい。

第1図および第2図に記載のキューベットを用いるときには、第二のキャビティ12に液体試料を満たすが、この試料は例示した態様では入り口13を通して毛細管作用によってキャビティ中に引き込まれるのである。液体試料はキャビティ12に設けられた試薬などと混合し、次いで、この混合物を例えば光度計で分析することができる。その後、このキューベットに遠心力を加えるばあいには、液体試料またはキャビティ12中に存在するその一部が流路14を通過して、遠心分離中に受入キャビティの低区画17に到達することができる。次いで、遠心分離を

終えたならば、液体試料の一部を芯18によって上の毛細管区画16に抜き取る。芯18は低区画17の底部までは到達しないので、重い材料はそこに残り、これによって材料が分離される。様々なキャビティまたは区画の容積は、互いにおよび吸収されるまたは液体試料で製造される重い材料の容積に関連させ、キューベットのどの部分も流体を過剰に満たしたりまたは充填量が不足しないようにする。行方分析によっては区画16,17の両方とも試薬または改質剤を有することができないか、またはその一方または両方ともが試薬または改質剤を有することができる場合がある。次に、分析は上区画16中で液体について行うことができ、また低区画17で重い材料について行うこともできる。重い材料の例は、血液試料を分析する際の区画17に集められた血球である。

第3図は、実際の応用に一層有用な本発明の一つの態様を示している。キューベットは第1図および第2図と同じ方法で設計することができ、入り口13を有する第一のキャビティ12、疎水性の障害物を有する流路14および受入キャビティ17を有する。しかしながら、受け入れキャビティ17の上区画または第二のキャビティ（ここでは21で示される）は、受入キャビティ17の第一のキャビティおよび低区画を通る中心線に関してオフセットされている。第二のキャビティ21は、第一のキャビティ12と受入キャビティ17を通る中心線とある角度になっている毛細管流路20によって受入キャビティ17と連通している。芯18と同じ種類の毛細管構造または芯19は毛細管流路20の一方の末端と接続しており、区画17の底部に向かって下方にある距離だけ伸びているが、前記の態様と同じ理由により区画17の底部から安全距離で終わっている。第二のキャビティ21は、ここでは周囲雰囲気に開いている流路22の形態の排出装置に接続して、空気含有物の形成を防止するようになっている。このキューベットでは、測定または反応キャビティ21はキューベットの遠心分離の際に存在する流路には配置されないため、液体中の重い材料と混和しない試薬を有することができる。この単純なキューベットは分析上の問題点の多くを解決する。試薬または他の薬剤を、異なる手法によって様々な箇所へ付着させることができる。適当な回数に互るインキュベーションは、第一のキャビティ12中、および遠心分離中の受入キャビティ17中で、また第二のキャビティ21でも可能である。数種類の試薬などが分離工程の後の様々なばあいに必要なときには、このキューベットは3個を上回る数のキャビティを有し、下記の説明から明らかになるように第二のキャビティは新たなサイクルの遠心分離の入り口キャビティとして働くようにしなければならない。

したがって、第4図のキューベットは、流路14と同様に毛細管作用による自発的な液体輸送を防止するために設けられている流路27を通して第二のキャビティ21と連通する第二の受入キャビティ28を有する。第二の受入キャビティ28は更に測定キャビティとして用いることがで

き、試薬などを有することができる。第二のキャピティ21に含まれる液体は、遠心分離によって流路27を通過して受入キャピティ28に吸収させることができる。所定の時間の後および任意には試薬と混合した後、液体をキャピティ28中で分析することができる。本発明のこの態様の利点の一つは、試薬をキャピティ21に給し、そこに収容された液体を所定の時間のインキュベーションの後、に、短時間の遠心分離の後に受入キャピティ28に通過させることができることであり、この液体を次にキャピティ28中で新たな試薬などと混合して所定時間のインキュベーションの後に分析するのである。

第5図は、第一のキャピティ12、流路14および受入キャピティ17の外に、第二のキャピティ21、第三のキャピティ21' および第四のキャピティ21'' 並びに第二の流路14' および第三の流路14'' 第二の受入キャピティ17' および第三の受入キャピティ17'' 並びに第一の毛細管流路20、第二の毛細管流路20' および第三の毛細管流路20'' を有する。第一のキャピティ12で吸収された液体を、前記のように遠心分離によって受入キャピティ17中を通し、そこから液体は芯19および毛細管流路20を通る毛細管作用によって第二のキャピティ21に吸収される。第二のキャピティ21から、液体は遠心分離によって流路14' を介して受入キャピティ17' に輸送され、そこから前記の工程と同じ方法で芯19' によって第三のキャピティ21' に引き抜かれる。同様に、液体は受入キャピティ17'' 、芯19'' および流路20'' を介して第四のキャピティ21'' に吸収される。ここに記載した態様のキューベットの必要とするような複雑な反応パターンを有する分析はそれ程多くはない。しかしながら、この態様は本発明の多様性を示している。最後に記載した態様では、排出流路22は一連のキャピティのうちの最後のキャピティ21'' に接続している。

第6図は、第3図および第4図の態様を組み合わせたもう一つの態様を示す。したがって、受入キャピティ17には2つの流路20,24が接続し、これらの流路はそれぞれ第二のキャピティ21,25に接続し、それぞれが芯19,23を有する。キャピティ21,25はそれぞれ排出流路22および26を有する。第6図における態様は、様々な時間のインキュベーションの後に行わなければならない2つの分析を行うのに用いることができる。2つの分析は一回の遠心分離の後に行うことができるので、第6図に記載のキューベットの多くのはあいには時間を節約することができる。

本発明の多様性の実際的な例は、第6図に記載のキューベットでの全血からの尿素およびアルカリホスファターゼの分析である。キャピティを確定する凹部を有するキューベット壁10はセルロースを基材とした樹脂から製造することができ、蓋を形成する他の壁は同じ材質のシートから切断することができる。

毛細管力によってはキャピティの表面をコロナ放電に

よってまたは任意の他の方法で処理して湿潤性を増加させることができる。疎水性流路14,14' ,14'' および27をシリコーン流体で処理することができ、焼結ポリプロピレンの薄片から成るフィルターをこれらの流路の上部における所定位置に押圧させることができる。グリシン、塩化マグネシウム、パラニトロフェニルホスフェートおよびキャリア剤の混合物であって、血漿に溶解するとpH10.5になるものを、第二のキャピティ21を確定する大表面の一方または両方に印刷する。第6図におけるキャピティ28を確定する表面には水酸化ナトリウムとキャリア剤との混合物を印刷する。キャピティ25を確定する壁の一方には、ウレアーゼとアルカリ緩衝液の混合物を塗布し、反対側の壁の対応する部分には指示範囲が酸領域内のpH指示薬を含むセルロースエステルの実質的に透明な材料を塗布する。第一のキャピティ12および受入キャピティ17はヘパリンを含んでおり、反応時間が長いときに凝固を防止する。第2図によりキューベットを形成する2つの壁を溶接または接着によって互いに接合させることができる。いずれの方法でも、優れた結果が得られる。

前記の方法で処理された第6図に記載のキューベットの使用では、キューベットを全血試料と接触させ、特殊な遠心分離光度計に入れる。遠心分離を開始し、血液を受入キャピティ17に通す。60〜90秒後に、血球を分離し、遠心分離機を停止させる。血漿を、流路20および24を通してキャピティ21および25へと抜き取る。キャピティ25中で試料尿素に対するウレアーゼの作用によって生成するアンモニアのためにpH指示薬の速度論的反転または逆転を監視することによって分析を開始しなければ、光度計は対照としての初期測定値を有することができる。尿素値を読み取りながら、アルカリホスファターゼ反応が第二のキャピティ21で進行し、所定の時間の後に遠心分離を開始して、短時間の後にキャピティ28中で液体を水酸化ナトリウムと接触させて反応を停止し、消化した基質の黄色を発現する。キャピティ28でこの色を測定した後、受け取ったデーターを加工して、分析値を示す。

引き上げた流体を配設された1個以上のキャピティにおいて適用可能な液体で希釈または洗浄するのが望ましいことがある。このために、第7図に示した設計のキューベットを用いることができる。ここで、キャピティ12をキャピティ30と並列に接続して前記の液体を吸収する。2つのキャピティ12および30はそれぞれ出口流路33および34を有し、それらは両方とも流路14に開いている。遠心分離中に、キャピティ12および30中の流体および液体はそれぞれ流路14に流入し、前記の態様と同様にして、この流路を通して受入キャピティ17などに流入する。

希釈または洗浄液体は、分析に関連してキャピティ30に吸引することができるが、好適には試薬を適用するときであって、液体を密封しなければならない場合であって、これをキャピティの入り口および出口に配設した密

栓または膜によって行うことができる場合には、これを予め供給することもできる。キャビティ30に適当な材料のカプセルを配置することも考えられる。キューベットを用いようとするときには、2つのシールを適当な工具によって貫通することができる。36で示されるようにキャビティにある種の貫通手段を設けることも可能である。キューベットを遠心分離するときには、貫通手段36を出口においてシール35と噛み合わせてこれを貫通させる。

洗浄または希釈液体を有するキャビティを流体受入キャビティ12と直列に接続することも考えられる。これは、例えば第8図に示される方法で第5図に記載のキューベットを改質することによって行うことができる。第5図に記載の態様において第二のキャビティ21として働くキャビティは、ここでは入り口39を設けることによって第一のキャビティ12として用いられる。第5図における第一のキャビティは、ここでは希釈または洗浄液体を収容するキャビティ38を形成し、この液体は前記の態様における流体と同様に、流路41、受入キャビティ40および液体引取り毛細管構造42によって流体受入キャビティ12に供給され、所望ならば第5図の態様と同じ方法で連続するキャビティに輸送される。希釈または洗浄液体は、分析に関連して毛細管作用によってキャビティ38へ引き込むことができるが、多くの場合にはこの液体はその代わりに第7図におけるキャビティ30と同じ方法で、キャビティに前もって適用し且つ密封するのが一層好都合である。

ある分析では、遠心分離によってそれぞれ受入キャビティ17および40に到達した流体または希釈または洗浄液体の一部をこのキャビティに保持するのが望ましいことがある。37に示されるように、キャビティを広くして、それぞれキャビティ21および12の容積を上回る容積を有するようにするのが好都合である。それ故、第二の遠心分離（ここでキャビティ21は空になつている）の後に、流体はキャビティ17から再度引き上げられる。

これらの図面は、密封壁によって画定される総てのキャビティを示しているが、これらの壁の1つまたは幾つかは米国特許第4,654,197号明細書に記載されているように半透膜で置き換えることができるのは明らかである。

本発明を、それぞれ前記のキューベットを用いる全血中のヘモグロビンおよびグルコース、および血清または血漿中のグルコースおよびタンパク質の定量に関する実施例1および2によって更に説明する。

実施例1

全血中のヘモグロビンおよびグルコースの定量

血液の赤色細胞である赤血球は主として脂質およびタンパク質の半透膜内部に複数の低および高分子型の水溶性の化学物質を有する。高分子型の一例は酸素輸送タンパク質ヘモグロビンであり、低分子型の一例は維持代謝機構に必要なエネルギー物質であるグルコースである。

低分子物質は細胞内および細胞外のいずれにも存在することがあるが、高分子物質は赤血球の膜を通過することができないことがある。全血中のヘモグロビンまたはグルコースを定量するときには、赤血球の膜を例えば洗剤または浸透性衝撃により或いはそれらの組み合わせによって破壊し、赤血球に含まれている物質は化学分析に利用可能になる。

ヘモグロビン

例えば第3図の本発明によるキューベットにおいて、キャビティ12に

- 0.30mgのデオキシコール酸ナトリウム、
- 0.15mgのナトリウムアジド、
- 0.15mgの亜硝酸ナトリウム、
- 0.1mgの非反応性成分

から成る乾燥化学試薬を供給する。

所定のキューベット量に対する試薬組成物を少量の水およびプルロニック (Pluronic) P85に溶解する。この試薬組成物は粘稠なコンシステンシーを有するので、例えばスクリーン印刷またはタンポン印刷によってキャビティ12の表面に均一に塗布することができる。用いられる試薬組成物は、ヘモグロビンと一緒に、キャビティ21で光度法によって定量することができるヘモグロビンアジド錯体を生成する。ヘモグロビン試薬を有するキューベットを用いて、キャビティ12に全血を供給するようにする。この試薬は血液に溶解し、ヘモグロビンアジド錯体を形成する化学反応は約45秒後に終了する。キャビティ12の内容物を例えば遠心力によってキャビティ21に移し、ここで透明な濁度の低い溶液を光度法によって分析することができる。キャビティ21中の壁間距離は約0.13mmである。

グルコース

- 1 KU GDH、グルコースデヒドロゲナーゼ
- 220 U NAD
- 0.3ミリモルMTT
- 250gホワイトサポニン (White Saponin) ,
- 50mgプルロニック (Pluronic) P85
- イオン交換を施した250μ lの水

包含されるこれらの成分を細かく分割してシルクスクリン印刷、シリンダー印刷などのような様々な印刷技術による表面のコーティングに用いるのに好適な懸濁液とする。この種類の懸濁液は本発明によるキューベットをコーティングするのに好適である。場合によっては、表面張力減少物質を加えて、疎水性プラスチック材料のコーティングを促進してもよい。この懸濁液を様々なコーティング装置に適応させるために、適当な高分子ポリマーを加えることによって粘度を変化させることができる。高分子ポリマーの選択は決定的なものではないが、乾燥試薬の溶解速度に影響を与える。用いることができるポリマーには、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、デキストランおよび様々なセルロース誘導

体を挙げることができる。ポリマーは、懸濁液を安定化するための観点から選択することもできる。例えば食品または化粧品産業における既知の製造技術に基づいて、試薬を様々表面に適応させることができる。

全血中のグルコースに対する試薬を、前記のように、第3図に示した型の本発明のキューベットに入れる。グルコース試薬をキャビティ12に入れる。試薬のキャビティ21への移行は、例えば遠心力によって行うことができる。キャビティ12に全血を満たし、グルコース試薬はグルコースを約3分後の終点において光度法によって測定可能な色に転換させる。キャビティ21への移行は赤色血液細胞である赤血球が例えば約1分後に破壊されてしまった後に行うことができる。ヘモグロビンの場合と同様にして、低濁度の透明な水性溶液中で光度測定を行う。キャビティ21における壁間距離は、全血中のグルコースの定量には約0.14mmである。全血におけるグルコースおよびヘモグロビンを定量するための光度法は2波長測定によって有利に行われる。

実施例2

血清または血漿中のグルコースおよびタンパク質の定量

分析質 (analyte) を血漿または血清中で定量するときには、赤色血液細胞である赤血球を除外すべきである。キューベットが数個のキャビティを有し、異なるキャビティの間の連通が毛細管力および遠心力によって保持されているときには、本発明によるキューベットは血漿または血清中で分析に特に好適である。血液を、多くの場合には直接採取による毛細管力によってキャビティに引き込み、血漿または血清を、キューベットの遠心分離の後に毛細管力によって分析質を定量するのに特に好適な試薬組成物を含むキャビティに移す。

血漿または血清中のグルコース

試薬組成物、1ml:

1 kU GDH, グルコースデヒドロゲナーゼ酵素

220 U NAD

0.3ミリモルMTT

50mgプルロニック (Pluronic) P85[®]

イオン交換を施した250μlの水

包含される試薬化合物を、全血中のグルコースを定量するための前記の実施例におけるのと同様に処理する。乾燥試薬のような適当な機能を得るための試薬組成物の任意の改質およびキューベットのキャビティの壁への接着

は前記の実施例における記載に準じる。

本発明によるキューベット中で血漿または血清中のグルコースを定量するためには、第3図に記載のキューベットを用いるのが有利である。前記の試薬組成物をキャビティ21中に、例えば印刷技法によってキャビティ21の表面上に均一に塗布する。乾燥すると、試薬はしばしば乾燥試薬と表わされるものに変化する。この構造におけるキャビティおよび他の流路上に蓋を置く。全血を採取して、例えば毛細管作用によってキャビティ12に流入させる。採取の後に、キューベットを遠心分離し、遠心分離が完了した後にキャビティ21に毛細管作用によって血漿または血清を滴す。赤血球は遠心分離によって除去されており、キャビティ21を満たすことは出来ない。試薬組成物は血清または血漿に溶解し、化学反応によりグルコースを特異的に定量することができる。化学反応、すなわちグルコース含量は、光度法によりキューベット中で直接読み取ることができる。

血清または血漿中のタンパク質

試薬組成物:

1ミリモル酒石酸リチウム

1ミリモル酒石酸銅

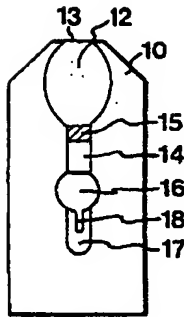
7ミリモル水酸化リチウム

これらの化学物質を適当量の水に溶解する。溶液を印刷技法によりキャビティに塗布するために正確な粘度にするためには、溶液を蒸発させる。乾燥試薬が更に約0.5~2%のラウリル硫酸リチウムおよび約1~5%のポリビニルピロリドン/ポリビニルアセテートコポリマーと任意に可塑剤を含む場合には、印刷技法による試薬の塗布は容易になる。

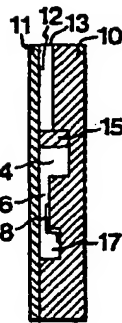
試薬を、第3図に記載のキューベット中で、キャビティ21に塗布する。このキューベットは、血漿または血清中のグルコースの定量に用いたキューベットと同様に機能する。

本発明によるキューベットは多くの種類の分析に用いることができ、特に全血に基づくグルコース、血中の尿素窒素、アルブミン、ビリルビン、総タンパク質などの定量のような日常的な種類の血液分析および多数の他の分析に特に好適である。したがって、本発明は前記のものに限定されるものと考えてはならず、請求の範囲内で数種類の異なる方法で改質することができる。

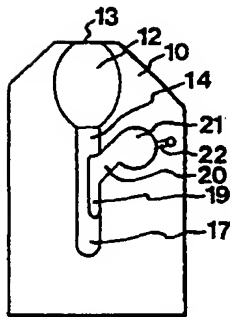
【第1図】



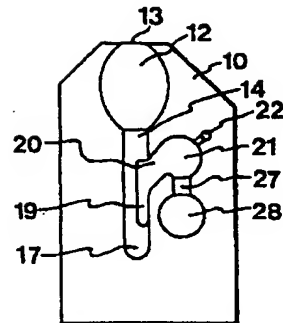
【第2図】



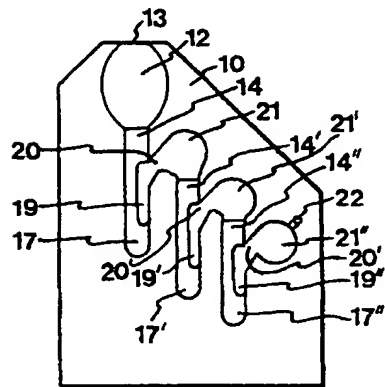
【第3図】



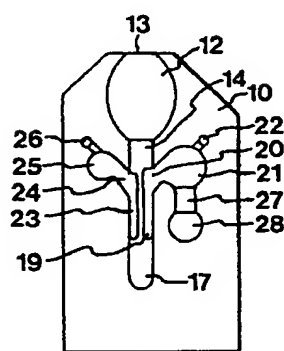
【第4図】



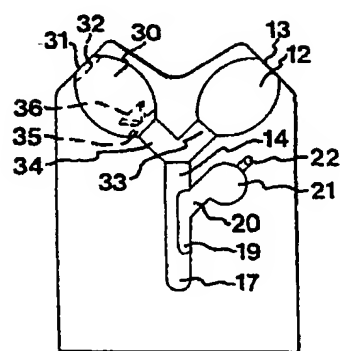
【第5図】



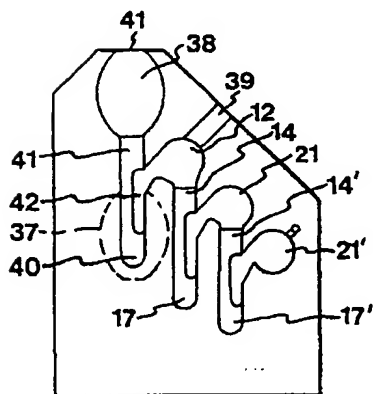
【第6図】



【第7図】



【第8図】



フロントページの続き

- (56)参考文献 特開 昭57-3046 (J P, A)
特開 昭64-26125 (J P, A)
特開 昭61-234360 (J P, A)
特公 昭57-11414 (J P, B 1)